

1137-A

BRITISH MUSEUM
(NATURAL HISTORY)

20 NOV 1989

EXCHANGED
GENERAL LIBRARY

Atti della Società Italiana di Scienze Naturali
e del Museo Civico di Storia Naturale di Milano

Vol. 130, n. 3, pagg. 77-88

Milano, settembre 1989

Luciano Sacchi (*) e Claudio Prigioni (*)

Haematozoa degli uccelli italiani.

III. Famiglia Ardeidae: prima segnalazione europea
di *Leucocytozoon* sp. in *Ardea cinerea*
e *Botaurus stellaris*, e di *Haemoproteus* sp.
in *Ixobrychus minutus*

Riassunto — Sono ridescritti *Leucocytozoon* sp. nell'Airone cenerino e *Haemoproteus* sp. nel Tarabusino; per entrambi i parassiti si tratta della prima segnalazione europea. Per il Tarabusino viene invece riportata la descrizione di un parassita appartenente al genere *Leucocytozoon*, mai segnalato in precedenza.

Viene suggerito che la famiglia Ardeidae possa essere parassitata da un'unica specie di *Leucocytozoon* altamente polimorfa e con marcate capacità adattative nei confronti di ospiti diversi.

Abstract — Haematozoa of Italian birds. III. Family Ardeidae: first European records of *Leucocytozoon* sp. in *Ardea cinerea* and in *Botaurus stellaris*, and of *Haemoproteus* sp. in *Ixobrychus minutus*.

The authors redescribe *Leucocytozoon* sp. in Grey Heron (*Ardea cinerea*) and *Haemoproteus* sp. in Little Bittern (*Ixobrychus minutus*); both parasites have never been recorded so far in Europe. For the Bittern (*Botaurus stellaris*) we describe an unrecorded parasite belonging to the genus *Leucocytozoon*.

The infected host species were gathered in Padania plain (Northern Italy). We suggest that the family Ardeidae is infected from a polymorphous species of *Leucocytozoon* with a wide adaptability for differing host species.

Key words: Emoparassiti, Ardeidae, *Leucocytozoon*, *Haemoproteus*.

(*) Dipartimento di Biologia Animale dell'Università di Pavia, Piazza Botta 9, 27100 Pavia.

© Soc. Ital. Sci. Nat. Museo Civ. Storia Nat.
corso Venezia 55, 20121 Milano
ISSN 0037-8844

Registrato al Tribunale
di Milano al n. 6574
Dir. resp. Giovanni Pinna

Introduzione

Da alcuni anni gli Autori del presente articolo si occupano degli aspetti epidemiologici e sistematici degli emoparassiti degli uccelli. Nella famiglia Ardeidae è stato evidenziato che le infezioni da *Leucocytozoon* sono particolarmente frequenti nella Nitticora (*Nycticorax nycticorax*) e nella Garzetta (*Egretta garzetta*), mentre per le altre specie esaminate (Tab. 1) gli emoparassiti costituiscono un reperto assai raro (Sacchi e Prigioni, 1986).

Tale fatto è tuttavia parzialmente legato alla notevole difficoltà di reperire un numero statisticamente rilevante di ospiti da esaminare. A tale proposito è opportuno rilevare che durante l'arco di quasi un secolo (1890-1978), in tutta l'Europa, sono stati esaminati solo 35 uccelli della famiglia Ardeidae (Peirce 1981). Buona parte delle segnalazioni di emoparassiti riguarda Grecia, Italia e Germania (Wulker 1919, Franchini 1924, Boing 1925). Nella quasi totalità dei casi, viene segnalata la presenza degli emoparassiti senza che vengano riportati dati morfologici e biometrici; inoltre di ciascun emoparassita viene data solo la denominazione generica.

L'infezione da *Leucocytozoon* da noi reperita nell'Airone cenerino e quella da *Haemoproteus* osservata nel Tarabusino, ci offrono pertanto l'opportunità di ridescrivere questi emoparassiti. Il *Leucocytozoon* nel Tarabuso viene invece qui descritto per la prima volta.

Materiale e metodi

Durante gli anni 1978-1987 sono stati raccolti strisci ematici provenienti da Ardeidae reperiti in Italia settentrionale. Complessivamente sono stati esaminati 275 uccelli appartenenti a 7 specie diverse (Tab. I). I 3 esemplari di Airone cenerino trovati infetti sono stati rinvenuti nei pressi di Parma (un esemplare il 28-2-82) e di Pavia (2 esemplari rispettivamente il 9-3-82 e il 15-3-82). Il Tarabuso infetto è stato reperito vicino a Pavia l'1-1-82 e l'unico esemplare esaminato di Tarabusino è stato rinvenuto nei dintorni di Vercelli (18-8-85).

Tabella I — Presenza di emoparassiti in Ardeidae esaminati negli anni 1978-1987.

specie	n. campioni	<i>Leucocytozoon</i>	<i>Haemoproteus</i>
Tarabuso (<i>Botaurus stellaris</i>)	3	1	—
Tarabusino (<i>Ixobrychus minutus</i>)	1	—	1
Nitticora (<i>Nycticorax nycticorax</i>)	192	44	—
Garzetta (<i>Egretta garzetta</i>)	31	10	—
Airone bianco maggiore (<i>Egretta alba</i>)	1	—	—
Airone cenerino (<i>Ardea cinerea</i>)	14	3	—
Airone rosso (<i>Ardea purpurea</i>)	33	—	—
Totale	275	58	1

Gli strisci ematici sono stati fissati in metanolo e colorati con il metodo di Giemsa. Nel caso del Tarabuso si è proceduto al prelievo «post mortem» di sangue cardiaco. Per il *Leucocytozoon* di Airone cenerino è stato possibile ottenere la maturazione «in vitro» dei gametociti diluendo il sangue con aggiunta di citrato di sodio (3,8%) ed incubando la soluzione in aria alla temperatura di + 28°C.

Le osservazioni dei parassiti e la documentazione fotografica sono state realizzate con il fotomicroscopio Zeiss III. Le misure dei gametociti sono state eseguite su immagini riportate su carta millimetrata, utilizzando un microscopio visore Reichert Visopan. Le valutazioni biometriche degli emoparassiti trovati, sono state effettuate tenendo conto dei criteri sistematici proposti da Bennett e Campbell (1972-1975).

La sistematica degli uccelli è quella di Voous (1972).

Risultati

Leucocytozoon sp. in *Ardea cinerea*

I 3 uccelli infetti, su un totale di 14 esaminati, presentano una bassa gametocitemia (< 0,1%) con prevalenza dei macro sui microgametociti (rapporto sessi ♀ : ♂ = 1,7 : 1).

Macrogametocita: rotondo presenta citoplasma blu scuro con piccoli vacuoli e granuli di pseudopigmento; il nucleo ovale, di colore rosa scuro, è collocato eccentricamente; il nucleolo, rosso scuro, è ben evidenziabile (Fig. 1). Il nucleo della cellula ospite, fortemente compresso e spostato perifericamente, occupa quasi la metà della circonferenza del gametocita. Una residua porzione citoplasmatica della cellula ospite è osservabile alla periferia del gametocita. I dati biometrici sono riportati nella Tabella II.

Tabella II — *Leucocytozoon* sp. in *Ardea cinerea*. Valori medi (in μ) e deviazioni standard (in parentesi) di 10 gametociti e 10 eritrociti non infetti.

	Lunghezza	Larghezza	Area
Macrogametocita	12.4(1.2)	11.7(2.5)	110.5(10.9)
Nucleo cellula ospite	13.7(2.7)	2.9(4.0)	23.9(4.0)
Microgametocita	12.9(2.5)	10.9(2.5)	99.5(7.6)
Nucleo cellula ospite	16.8(3.4)	2.9(0.9)	32.7(6.0)
Eritrocita normale	13.4(1.0)	7.2(0.5)	72.5(6.7)
Nucleo eritrocita normale	6.5(0.7)	2.4(0.3)	10.5(1.8)
Indice parassita	1.5		
Indice nucleo cellula ospite	2.3		
Indice cellula ospite-parassita	1.9		

Indice parassita = area del macrogametocita/area dell'eritrocita normale.

Indice nucleo cellula ospite = area del nucleo della cellula ospite del macrogametocita/area del nucleo dell'eritrocita normale.

Indice cellula ospite-parassita = area del complesso cellula ospite-macrogametocita/area dell'eritrocita normale.

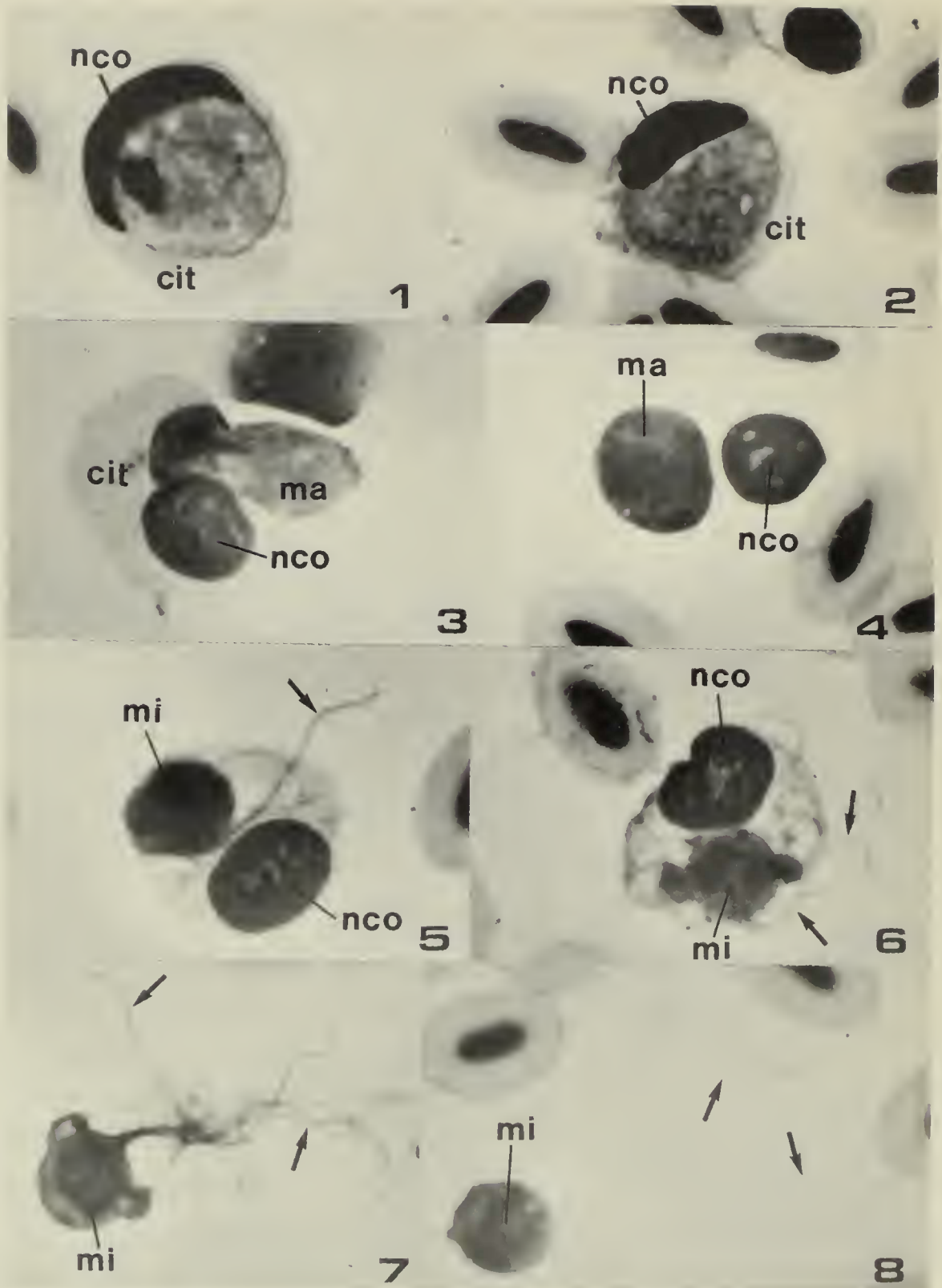


Fig. 1-8 — *Leucocytozoon* sp. in *Ardea cinerea*. Macrogametocita (1), microgametocita (2). Formazione del macrogamete: il macrogametocita emerge dalla cellula ospite (3), il nucleo della cellula ospite ed il macrogamete riassumono la forma rotonda (4). Formazione del microgamete: all'interno della cellula ospite inizia il processo di extraflagellazione (5-6), la maturazione del microgametocita si completa con la formazione di 8 microgameti (7) che successivamente diventano strutture autonome (8); cit = citoplasma cellula ospite, freccia = microgameti, ma = macrogametocita, mi = microgametocita, nco = nucleo cellula ospite.

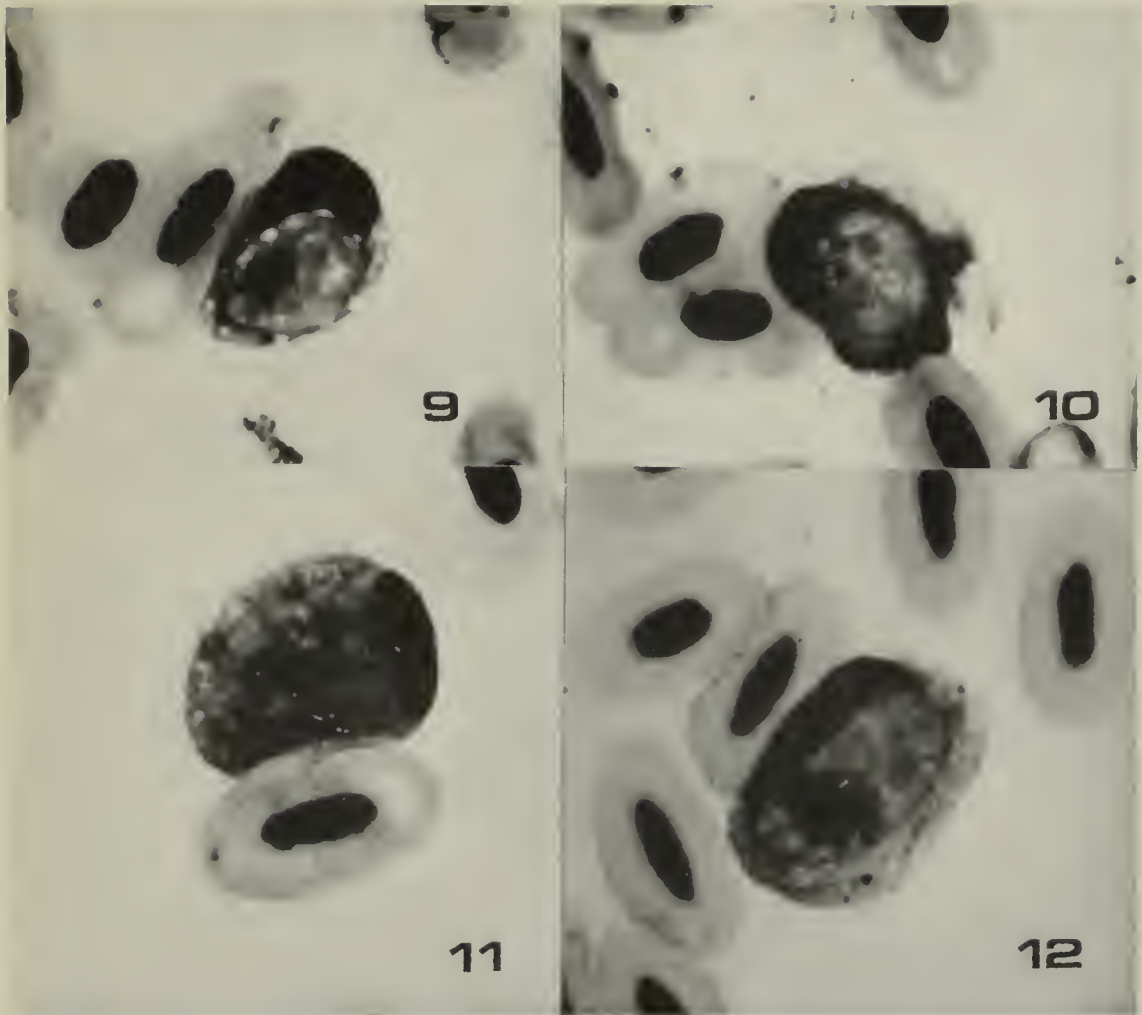


Fig. 9-12 — *Leucocytozoon* sp. in *Botaurus stellaris*: macrogametocita immaturo (9), microgametocita immaturo (10), macrogametocita (11), microgametocita (12).

Microgametocita: rotondo possiede un citoplasma rosso pallido; il nucleo è diffuso con granuli cromatinici rossastri sparsi nel citoplasma (Fig. 2). Il nucleo della cellula ospite, fortemente compresso alla periferia, occupa per $1/3$ la circonferenza del gametocita.

Il citoplasma della cellula ospite è appena percettibile e forma un alone periferico. I dati biometrici sono riportati nella Tabella II.

Maturazione dei gameti: dopo pochi minuti di incubazione all'aria del sangue infetto a $+ 28^{\circ}\text{C}$, i macrogametociti fuoriescono dalla cellula ospite (Fig. 3). In questa fase la cellula ospite mostra una alterata porzione citoplasmatica e un nucleo ipertrofico che, non più compresso dal gametocita, recupera la forma sferica. Divenuto extracellulare, il macrogamete si presenta di forma rotonda con citoplasma blu scuro e porzione nucleare evidente (Fig. 4). Il microgametocita va incontro, nello stesso periodo di incubazione, a cambiamenti più complessi. Si osserva una modificazione del materiale nucleare che assume prima un aspetto filamentoso (spirema), poi tende a condensarsi in zolle cromatiche compatte (Fig. 5-6). Questi rapidi cambiamenti avvengono

all'interno della cellula parassitata. Successivamente il microgametocita si porta in posizione extracellulare e completa il processo di extraflagellazione con la formazione di 8 microgameti (Fig. 7), che successivamente diventano autonomi (Fig. 8).

Parassita: *Leucocytozoon* sp.
 Ospite: *Ardea cinerea*
 Vettore: Sconosciuto
 Distribuzione: India, Italia
 Materiale: Depositato presso il Dipartimento di Biologia Animale dell'Università di Pavia (collezione degli Autori).

Leucocytozoon sp. in *Botaurus stellaris*

Un esemplare su 3 esaminati, presenta un'infezione da *Leucocytozoon* con una parassitemia inferiore allo 0,1%.

Gametociti immaturi: il macrogametocita è rotondo con citoplasma blu scuro; sono presenti vacuoli ed è evidente un nucleo in posizione eccentrica (Fig. 9). Il nucleo della cellula ospite è spostato perifericamente e forma una sorta di cappuccio ed il citoplasma si presenta sotto forma di un sottile alone periferico.

Il microgametocita immaturo ha forma rotondeggiante e possiede un citoplasma rosa chiaro con diversi granuli cromatinici (Fig. 10).

Il nucleo della cellula ospite è dislocato alla periferia e circonda per intero il gametocita.

Macrogametocita: rotondo presenta citoplasma blu scuro, con piccoli vacuoli e granuli di pseudopigmento (Fig. 11). Il nucleo, rosso chiaro, è ovale e occupa una posizione sia centrale che eccentrica. Il nucleolo, di colore rosso scuro è ben evidente. Il nucleo della cellula ospite ha forma di cappuccio e si

Tabella III — *Leucocytozoon* sp. in *Botaurus stellaris*. Valori medi (in μ) e deviazioni standard (in parentesi) di 10 gametociti e 10 eritrociti non infetti.

	Lunghezza	Larghezza	Area
Macrogametocita	10.4(2.2)	10.4(1.4)	86.9(26.0)
Nucleo cellula ospite	8.1(2.0)	2.4(0.6)	14.8(4.1)
Microgametocita	10.4(1.9)	9.4(1.6)	66.5(14.7)
Nucleo cellula ospite	6.6(1.4)	3.4(1.4)	16.0(4.3)
Eritrocita normale	14.1(1.3)	6.6(0.4)	63.8(9.6)
Nucleo eritrocita normale	6.2(0.5)	2.4(0.2)	10.1(1.4)
Indice parassita	1.4		
Indice nucleo cellula ospite	1.5		
Indice cellula ospite-parassita	1.6		

Indice parassita = area del macrogametocita/area dell'eritrocita normale.

Indice nucleo cellula ospite = area del nucleo della cellula ospite del macrogametocita/area del nucleo dell'eritrocita normale.

Indice cellula ospite-parassita = area del complesso cellula ospite-macrogametocita/area dell'eritrocita normale.

trova alla periferia della cellula. È riconoscibile una limitata porzione citoplasmatica della cellula ospite. I dati biometrici sono riportati nella Tabella III.

Microgametocita: rotondo possiede un citoplasma rosa e zolle di cromatina nucleare rosse sparse nel citoplasma (Fig. 12). Il nucleo della cellula ospite, a forma di cappuccio, occupa una posizione periferica. Alla periferia del gametocita si può osservare una piccola porzione citoplasmatica della cellula ospite. I dati biometrici sono riportati nella Tabella III.

Parassita: *Leucocytozoon* sp.

Ospite: *Botaurus stellaris*

Vettore: Sconosciuto

Distribuzione: Italia (prima segnalazione)

Materiale: depositato presso il Dipartimento di Biologia Animale dell'Università di Pavia (collezione degli Autori).

Haemoproteus sp. in *Ixobrychus minutus*

L'unico esemplare esaminato presentava un'infezione da *Haemoproteus* sp. con una gametocitemia inferiore allo 0,1%.

Gametociti immaturi: occupano una porzione laterale dell'eritrocita con granuli di pigmento concentrati al centro e la porzione nucleare diffusa nel citoplasma; il nucleo della cellula ospite è leggermente spostato di lato (fig. 13). Le doppie infezioni sono poco frequenti (Fig. 14).

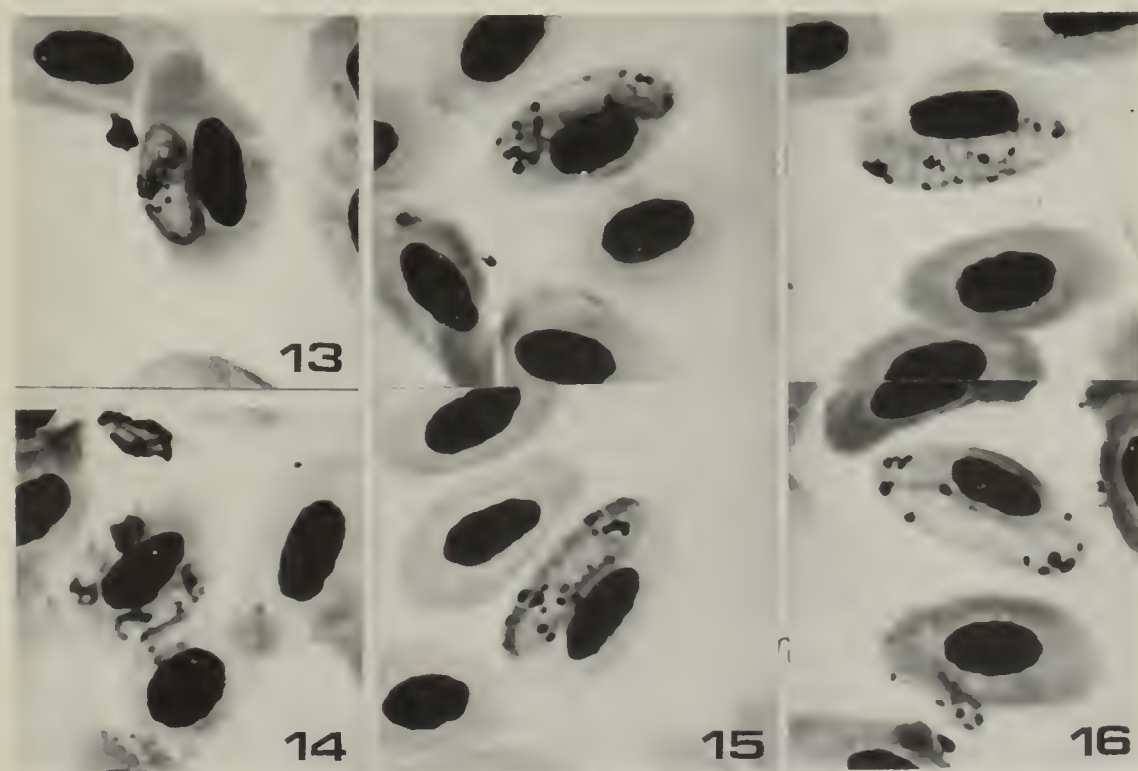


Fig. 13-16 — *Haemoproteus* sp. di *Ixobrychus minutus*: microgametocita immaturo (13), doppia infezione (14), due macrogametociti (15), due microgametociti (16).

Macrogametociti: a forma di salsicciotto, occupano per circa 1/2 l'eritrocita senza circondare il nucleo, che viene spostato lievemente di lato (Fig. 15). Il citoplasma del gametocita è di colore blu chiaro con un nucleo rosa, poco evidente, in posizione centrale e numerosi granuli di pigmento sparsi nel citoplasma. I dati biometrici sono riportati in Tabella IV.

Microgametociti: hanno forma e dimensione simile ai macrogametociti ed occupano la stessa posizione nel citoplasma del globulo rosso (Fig. 16). Il citoplasma si presenta di color rosa chiaro con nucleo diffuso con alcune zolle di cromatina rossastre. I granuli di pigmento sono per lo più distribuiti ai poli.

I dati biometrici sono riportati in Tabella IV.

Parassita: *Haemoproteus* sp.
 Ospite: *Ixobrychus minutus*
 Vettore: Sconosciuto
 Distribuzione: Africa, Italia
 Materiale: Depositato presso il Dipartimento di Biologia Animale dell'Università di Pavia (collezione degli Autori).

Tabella IV — Parametri morfometrici di *Haemoproteus* sp. di *Ixobrychus minutus*. Valori medi (in μ) e deviazioni standard (in parentesi) di 10 eritrociti non infetti.

	Eritrocita			Nucleo dell'Eritrocita			Parassita			N. granuli di pigmento
	Lung.	Larg.	Area	Lung.	Larg.	Area	Lung.	Larg.	Area	
Parassitati										
Macrogametociti	13,5 (0,8)	6,3 (0,7)	63,3 (8,7)	5,7 (0,3)	2,2 (0,2)	8,9 (1,1)	11,9 (0,5)	2,9 (0,4)	27 (4,6)	15,2 (1,6)
Microgametociti	13,2 (0,9)	5,9 (0,4)	58,8 (5,3)	5,8 (0,4)	2,1 (0,3)	8,6 (1,1)	13,6 (1,2)	2,9 (0,4)	29,5 (4,7)	14,4 (1,6)
Non parassitati	12,3 (0,7)	6,7 (0,5)	59,3 (6,4)	5,7 (0,4)	2,5 (0,4)	9,5 (1,2)				

Discussione

L'infezione da *Leucocytozoon* in *Ardea cinerea* è stata sin ora segnalata solo in un unico esemplare catturato a Bharatpur, India (Mc Clure et al., 1978). Non esiste invece alcun dato sul reperimento dello stesso genere in *Botaurus stellaris* e pertanto questa deve essere considerata come la prima segnalazione riportata in letteratura.

All'interno della famiglia Ardeidae sono state sin ora descritte 4 specie di *Leucocytozoon* e precisamente *L. ardeolae*, *L. iowense*, *L. ardeae*, e *L. leboeufi* (Hsu et al., 1973). Tuttavia secondo Fallis et al. (1974), le prime 2 specie sarebbero da considerarsi sinonimi di *L. ardeae* e, pertanto, solo le ultime due dovrebbero essere ritenute specie valide. È però opportuno rilevare che le attri-

buzioni specifiche sopra riferite, che risalgono alla prima metà del secolo, derivano soltanto dai dati morfologici ed, in parte, biometrici delle sole forme sessuate, presenti nel sangue periferico.

Non si conosce nulla sul ciclo biologico del *Leucocytozoon* degli Ardeidae, come pure è sconosciuto l'insetto vettore.

È nota invece sia la capacità del parassita di variare la propria morfologia anche all'interno della stessa specie ospite (Bennet e Campbell, 1975), sia la sua scarsa specificità. Infezioni sperimentali, nei Passeriformes, hanno infatti dimostrato che una singola specie di *Leucocytozoon* è in grado di parassitare diverse specie ospiti (Bennet e Cameron, 1975). L'elevato polimorfismo e la grande adattabilità nei confronti dell'ospite, rende poco convincente il tentativo di giungere alla determinazione specifica utilizzando solo i dati morfologici e biometrici dei gametociti. Non esiste pertanto alcun elemento oggettivo per identificare i parassiti da noi reperiti con le due specie valide riportate in letteratura. Non si può del resto scartare a priori l'ipotesi, mancando la possibilità di eseguire infezioni sperimentali, che la famiglia Ardeidae sia parassitata da un'unica specie di *Leucocytozoon* altamente polimorfa e con notevoli capacità adattative nei confronti di ospiti diversi.

L'infezione da *Haemoproteus* sp. da noi reperita in *Ixobrychus minutus*, costituisce la prima segnalazione europea. Precedentemente infatti tale infezione era stata segnalata solamente in Africa (Mohammed 1958, Ashford et al. 1979). Il Tarabusino è considerato l'ospite tipo di *H. mathislegeri* (sinonimo di *Haemoproteus herodiadis* var. *mathis-legeri*; Mohammed 1958).



Fig. 17 — Airone cenerino, *Ardea cinerea*, in prossimità del nido.



Fig. 18 — Ambiente tipico di una garzaia del Parco del Ticino (Pavia).

Bibliografia

- Ashford R. W., Palmer T. T., Ash J. S., Bray R. S., 1976 - Blood parasites of Ethiopian birds 1. General survey. *J. Wildl. Pls.*, 12: 409-426.
- Bennett G. F. e Cameron M. F., 1975 - Mixed infection of species of *Leucocytozoon* in individual birds from Atlantic Canada. *J. Parasitol.*, 61: 1091-95.
- Bennett G. F. e Campbell A. G., 1972 - Avian Haemoproteidae. I. Description of *Haemoproteus fallisi* n. sp. and a review of the haemoproteids of the family Turdidae. *Can. J. Zool.*, 50: 1269-1275.
- Bennett G. F. e Campbell A. G., 1975 - Avian Leucocytozoidae, 1. Morphometric variation in three species of *Leucocytozoon* and some taxonomic implication. *Can. J. Zool.*, 53: 800-812.
- Boing W., 1925 - Untersuchungen über Blutschmarotzer bei einheimischem Vogelwild. *Zentralbl. für Bakteriol. Parasitenk. Infektionskr. Hyg. I. Abt. Orig.* 95: 317-327.
- Fallis A. M., Desser S. S., Khan R. A., 1974 - On species of *Leucocytozoon*. In: Advances in Parasitology (B. Dawes ed.) *Academic Press*, New York, 12: 1-67.
- Franchini G., 1924 - Observations sur les hématozoaires des oiseaux d'Italie. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, 36: 470-515.
- Hsu C. K., Campbell G. R., Levine N. D., 1973 - A Check-list of the species of the genus *Leucocytozoon* (Apicomplexa, Plasmodidae). *J. Protozool.*, 20: 195-203.
- Mohammed A. H. H., 1958 - Systematic and experimental studies on protozoal blood parasites of Egyptian birds. *Cairo Univ. Press.*, Giza, Egypt, 2 voll.: 1-298.
- Peirce M. A., 1981 - Distribution and host-parasite Check-list of the haematozoa of birds in Western Europe. *J. of Nat. Hist.* 5: 419-458.
- Sacchi L. e Prigioni C., 1986 - Emoparassitosi aviarie nel Parco del Ticino ed in altre zone italiane. *Ann. Ist. Sup. Sanità*, 22 (1): 111-116.
- Voous K. H., 1972 - List of recent holartic bird species - non-passerines. *Ibis*, 115: 612-639.
- Wulker G., 1919 - Über parasitische Protozoen Mazedoniens. *Archiv. für Schiffs-und Tropen - Hygiene*, 23: 425-431.

